

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. H. Mooser

Die Lebensdauer von *Rickettsia prowazeki* in Läusefaeces

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

Shu-Hsian Chao

von Kaifeng/Honan, China

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. H. Mooser



Zürich 1949

VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Zum Andenken an meine Eltern



Sonderdruck aus
«Schweiz. Zeitschrift für Pathologie und Bakteriologie», Vol. XII, Nr. 5 (1949).

Über den Aufenthalt des Erregers des klassischen Fleckfiebers während des interepidemischen Intervalles ist immer noch nichts Sicheres bekannt. *Nicolles* Hypothese von einer serienweisen Übertragung des Fleckfiebers in inapparenter Form scheint definitiv abgelehnt, da in inapparenten und selbst sehr leicht verlaufenden Fällen von Fleckfieber die Läuse sich nicht infizieren (1, 2, 3). Zudem kann nicht angenommen werden, daß das Fleckfieber periodisch in langer Infektionskette rein inapparent verlaufen soll (1). Die Hypothese der Entstehung des klassischen Fleckfiebers aus dem murinen Fleckfieber (4) konnte nie bewiesen werden. Zur Diskussion stehen noch zwei Hypothesen:

1. *Zinsser's* (5) Hypothese der späten Rückfälle;
2. die Hypothese derjenigen Autoren (6, 7, 8), welche annehmen, daß eingetrocknete Läusefaeces das Virusreservoir des klassischen Fleckfiebers bilden. Sie stützen sich auf Beobachtungen über die relativ lange Lebensdauer von *R. prowazeki* in Läusefaeces (6, 7, 8, 9, 10).

Im folgenden wird über Versuche über die Lebensdauer von *R. prowazeki* in Faeces infizierter Läuse berichtet.

Material und Methoden.

Mit Ausnahme eines einzigen Versuches wurde der klassische Fleckfieberstamm «Cairo» verwendet, den wir der Freundlichkeit des National Institute of Health in Hampstead verdanken (*R. prowazeki*). Für jeden Versuch wurden 100—120 Läuse, ausgehend von einer pneumonischen Mäuselunge, nach der Methode *Weigls* inokuliert. Die Läuse wurden in Brutschachteln am Bein gefüttert und den ganzen Tag getragen. Jeden Morgen wurden die angesammelten Faeces aus der Schachtel entfernt. Ausstriche der

Faeces wurden täglich nach *Giemsa* oder *Macchiavello* auf die Anwesenheit von Rickettsien mikroskopisch untersucht. Wenn in den Faeces massenhaft Rickettsien nachweisbar waren, was gewöhnlich nach 7—9 Tagen der Fall war, wurden die während einer 24 Stunden dauernden Fütterung produzierten Faeces gesammelt und auf einem Filterpapier in einer Petrischale aufbewahrt. Die Faeces wurden nun verschiedenen Temperaturen und Feuchtigkeitsgraden ausgesetzt:

1. Im Winter bei Zimmertemperatur zwischen 10—20° C und einer relativen Feuchtigkeit von 36—60%.
2. Im Brutschrank bei 25—28° C und einer relativen Feuchtigkeit von 30—35%.
3. Im Brutschrank bei 25—28° C und einer relativen Feuchtigkeit von 75—85%.
4. Im Kühlraum bei 3—6° C und einer relativen Feuchtigkeit von 60—70%.
5. Ein Versuch mit *R. mooseri* wurde im Sommer 1948 ausgeführt bei einer Temperatur zwischen 9,6 und 21,7° C und einer relativen Feuchtigkeit von 55—96%.

Die unter diesen unterschiedlichen Bedingungen aufbewahrten Läusefaeces wurden gewöhnlich in Abständen von 1—2 Wochen auf die Anwesenheit *lebender* Rickettsien geprüft. Zu diesem Zwecke wurden von dem aufbewahrten Material jeweils 30 Läuse rektal und zwei Meerschweinchen intraperitoneal inokuliert. Wenn die Meerschweinchen nicht mit einer typischen Fleckfieberkurve reagierten, wurden sie später intraperitoneal mit $\frac{1}{10}$ Meerschweinchengehirn des Stammes «Cairo» auf Immunität geprüft. Zur Diagnose einer angegangenen Infektion wurde zuweilen auch die Komplementbindungsreaktion herangezogen. Beginnend mit dem 6. Tag nach der rektalen Inokulation wurden die Faeces der Läuse täglich mikroskopisch auf die Anwesenheit von Rickettsien untersucht, entweder nach Färbung der Ausstriche mit Giemsalösung oder nach Macchiavello. Von all den während der Beobachtungszeit einer Serie verstorbenen Läusen wurden die Därme herauspräpariert und mikroskopisch auf Rickettsien untersucht. Nach 12—14tägiger Beobachtung wurden die überlebenden Läuse getötet und die Därme mikroskopisch untersucht und auf zwei Meerschweinchen verimpft.

Die Tabellen I—V illustrieren die erhaltenen Resultate.

Versuch I.

TABELLE I.

Bei Zimmertemperatur 10—20° C und 36—60% relativer Feuchtigkeit.

Faeces geprüft nach Tagen	Läusetest	positiv %	Meerschweinchentest
9	+	100	+
13	+	95	+
18	+	95	0
23	+	95	0
30	+	95	0
40	+	77	—
60	+	60	—
63	+	55	—
75	+	50	—
147	+	25	—
190	0	0	—

0 = Keine Rickettsien, bzw. Meerschweinchen nicht infiziert.

+

— = Nicht geprüft.

Versuch II.

TABELLE II.

Im Brutschrank 25—28° C und 30—35% relativer Feuchtigkeit.

Faeces geprüft nach Tagen	Läusetest	positiv %	Meerschweinchentest
8	+	100	+
13	+	90	0
19	+	90	+
29	+	60	0
39	+	50	0
55	+	10	—
130	0	0	—

Versuch III.

TABELLE III.

Im Brutschrank 25—28° C und 75—85% relativer Feuchtigkeit.

Faeces geprüft nach Tagen	Läusetest	positiv %	Meerschweinchentest
13	+	50	0
19	+	40	0
25	0	0	—
53	0	0	—

Versuch IV.

TABELLE IV.

Im Kühlraum 3—6° C und 60—70% relativer Feuchtigkeit.

Faeces geprüft nach Tagen	Läusetest	positiv %	Meerschweinchentest
20	+	40	0
41	0	0	—

Ein einziger Versuch wurde mit einem murinen Stamm aus Mexiko ausgeführt (R. mooseri). Wie Tabelle V zeigt, gingen die Rickettsien schon zwischen dem 17. und dem 30. Tag nach Aufbewahrung der Läusefaeces zugrunde. Die relative Feuchtigkeit des Laboratoriums stieg tags bis über 90% (Juli 1948).

Versuch V.

TABELLE V.

Bei Zimmertemperatur 9,6—21,7° C und 55—96% relativer Feuchtigkeit.

Faeces geprüft nach Tagen	Läusetest	positiv %	Meerschweinchentest
17	+	40	—
30	0	0	—
37	0	0	—

Besprechung der Befunde.

Aus den Versuchen ist ersichtlich, daß der Läusetest empfindlicher war als der Meerschweinchentest. In den verschiedenen Versuchen ergab der Meerschweinchentest nur mit 8, 9, 13 bzw. 19 Tage alten Faeces positive Resultate. Im Läusetest hingegen ließen sich lebende Rickettsien je nach den Versuchsbedingungen in 19 bis 147 Tage alten Faeces nachweisen. Daß aber die Virulenz der Faeces mit der Dauer der Aufbewahrung derselben abnahm, ergab sich auch aus dem Läusetest. Der Prozentsatz der infizierten Läuse nahm progressiv mit dem Alter der zur rektalen Inokulation verwendeten Faeces ab. Da für die rektale Inokulation der Läuse immer die gleichen Mengen von Faeces im gleichen Volumen von neutraler Bouillon aufgeschwemmt wurden, ist die zusehende Abnahme des Prozentsatzes der infizierten Läuse nur durch eine entsprechende Abnahme der Zahl der lebenden Rickettsien zu erklären. 147 Tage war der längste Termin, bei welchem in einem Versuch die Faeces noch lebende Rickettsien enthielten (Versuch I). Die Prüfung derselben Faeces nach 190 Tagen ergab ein negatives Resultat. Eine Prüfung zwischen diesen beiden Terminen wurde nicht vorgenommen, weil in dieser Versuchsserie nach 147 Tagen noch soviel Faeces übriggeblieben waren, daß sie nur noch für einen weiteren Versuch ausreichten, der am 190. Tag ausgeführt wurde (Versuch I). Das Gleiche gilt für Versuch II, in welchem zwischen dem letzten positiven und dem negativen Läusetest 75 Tage verstrichen. Aus den Versuchen scheint auch hervorzugehen, daß die Lebensdauer der *R. prowazeki* aus-

gesprochener von der relativen Feuchtigkeit abhing als von der Temperatur. Bei einer Temperatur von 3—6° C und einer relativen Feuchtigkeit, die zwischen 60—70% schwankte, enthielten die Läusefaeces nach 41 Tagen keine lebenden *Rickettsien* mehr. Der deletäre Einfluß der Feuchtigkeit auf *R. prowazeki* ist aus den in Tabelle II und III enthaltenen Versuchen ersichtlich. In diesen beiden Versuchen war die Aufbewahrungstemperatur die gleiche, d. h. 25—28° C, während die relative Feuchtigkeit in Versuch II 30—35% betrug, in Versuch III 75—85%. Im ersteren Falle starben die *Rickettsien* zwischen dem 55. und 130. Tag, im letzteren zwischen dem 19. und 25. Tag der Aufbewahrung der Faeces. Der deletäre Einfluß hoher relativer Feuchtigkeit bei relativ niedriger Temperatur ergab sich eindrucklich im Versuch mit *R. mooseri* (Versuch V, Tabelle V). Der Versuch lief während des feuchtkalten Monats Juli des Jahres 1948. Die relative Feuchtigkeit schwankte zwischen 55 und 96% und war im Tagesdurchschnitt 75%. Die mittlere Tagestemperatur betrug 14,8° C, die niedrigste 9,6, die höchste 21,7° C. Am längsten lebten die *Rickettsien* unter einer Aufbewahrung der Faeces bei einer Temperatur von 10—20° C und einer relativen Feuchtigkeit, die zwischen 36% und 60% schwankte. Es war dies im Winter bei künstlicher Heizung des Laboratoriums. Die Temperatur betrug während des Tages 18—20° C, nachts sank sie bis auf 10° C ab. Die Versuche zeigen, daß *R. prowazeki* in Läusefaeces unter gewissen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen bis 5 Monate lebensfähig bleiben kann. Trotzdem erlaubt das Ergebnis unserer Versuche keineswegs den Schluß, daß damit bewiesen sei, daß infizierte Läusefaeces das Virusreservoir bilden, das nach monatelanger fleckfieberfreier Periode die Quelle neuer Fälle von Fleckfieber abgibt. Die in unseren Versuchen verwendeten Läusefaeces stammten von Läusepopulationen, in welchen 100% der Individuen infiziert waren. Zudem wurden die Faeces den Fütterungsschachteln entnommen an einem Tage, da die *Rickettsien*auscheidung eine maximale war. Trotzdem nahm die Infektiosität dieser Faeces *pari passu* mit der Dauer ihrer Aufbewahrung ab, relativ früh schon für die Meerschweinchen, die alle mit ca. 5 mg Faeces inokuliert wurden, bedeutend später für die Läuse. Unsere Versuche ergaben wohl, daß die Laus ein viel empfindlicheres Objekt zur Prüfung der Virulenz der Läusefaeces ist als das Meerschweinchen, sie können aber nichts aussagen darüber, ob der

Mensch für die Infektion durch Läusefaeces, die mehrere Monate alt sind, noch so empfänglich ist wie die Laus.

Literatur.

1. H. Mooser, G. Varela und H. Pilz: J. Exp. Med. 59, 137 (1934). — 2. H. Mooser: Schweiz. Zschr. Path. u. Bakt. 4, 1 (1941). — 3. H. Mosing: Off. Int. Hyg. Publ. 29, 708 (1937); 30, 1715 (1930). — 4. H. Mooser: Arch. Inst. Past. Tunis 21, 1 (1932). — 5. H. Zinsser: Am. J. Hygiene 20, 513 (1934). — 6. B. Fejgin: C. R. Soc. Biol. 123, 37 (1936). — 7. J. Starzyk: C. R. Soc. Biol. 123, 1221 (1936). — 8. G. Blanc et M. Baltazard: Maroc Médical 215 (1941). — 9. J. A. Arkwright und A. Bacot: Brit. J. Exp. Path. 4, 70 (1923). — 10. F. Weyer: Zschr. für Naturforschung 9/10, 355 (1947).

Zusammenfassung.

Die Überlebensdauer von *Rickettsia prowazeki* in Läusefaeces wurde unter verschiedenen Temperaturen und Feuchtigkeitsbedingungen geprüft. Als Testobjekte dienten rektal inokulierte Läuse und intraperitoneal inokulierte Meerschweinchen. Der Läusetest erwies sich als der bedeutend empfindlichere. Bei Zimmertemperaturen, die zwischen 10° und 20° C und einer relativen Feuchtigkeit zwischen 36% und 60% schwankten, sind die Rickettsien zwischen dem 147. und 190. Tage der Aufbewahrung zugrunde gegangen. Im Kühlraum bei 3° bis 6° C und 60—70% relativer Feuchtigkeit waren lebende Rickettsien noch nach 20 Tagen, nicht aber nach 41 Tagen nachweisbar. Bei einer Temperatur, die zwischen 25° und 28° C und einer relativen Feuchtigkeit zwischen 30% und 35% schwankte, waren lebende Rickettsien noch nach 55 Tagen, nicht aber nach 130 Tagen nachweisbar. Bei einer Brutschranktemperatur von 25° bis 28° C und einer relativen Feuchtigkeit von 75—85% waren lebende Rickettsien noch nach 19 Tagen, nicht aber nach 25 Tagen nachweisbar. Aus den Ergebnissen geht hervor, daß die Lebensdauer der *Rickettsia prowazeki* in Läusefaeces mehr durch die relative Feuchtigkeit als durch die Temperatur ungünstig beeinflusst wird.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Das Thema der vorliegenden Arbeit hat mir Herr Prof. *H. Mooser* zur Verfügung gestellt. Dafür, sowie auch für die Hilfe, die er mir während meiner Untersuchungen leistete, bin ich ihm zu Dank verpflichtet. Des weitem gebührt mein Dank Herrn *A. Leemann* für die sehr bereitwillige Mithilfe.

Curriculum vitae.

Am 18. August 1914 wurde ich in Honan, China, geboren. Die Primar-, Sekundar- und Mittelschule besuchte ich in Peking, 1932 absolvierte ich die Maturität. Im gleichen Jahr immatrikulierte ich mich an der Medizinischen Fakultät der Staatlichen Tung-Chi-Universität in Schanghai. 1936 besuchte ich einen mikrobiologischen Kurs am Kitasato-Institut in Tokio. Während des Krieges war ich Lazarettarzt. 1942 bestand ich die medizinische Schlußprüfung. Anschließend arbeitete ich im Bakteriologischen Departement des «North-Western Epidemic Prevention Bureau» in Lanchow, Kansu. 1945 war ich als Privatdozent der Bakteriologie an der «National North-Western Medical School» und darauf an der «National Honan University» in Kaifeng tätig. Ende 1947 kam ich in die Schweiz, wo ich seither als wissenschaftlicher Assistent am Hygiene-Institut der Universität Zürich arbeite.